

S. Bourdoulous¹A. Bensaïd²D. Martinez³O. Durieu-Trautmann¹A.D. Strosberg¹P.O. Couraud¹

MHC class II molecules induction after infection of bovine brain endothelial cells by *Cowdria ruminantium* *

BOURDOULOUS (S.), BENSALD (A.), MARTINEZ (D.), DURIEU-TRAUTMANN (O.), STROSBERG (A.D.), COURAUD (P.O.). Induction de molécules de classe II du CMH après infection de cellules endothéliales de cerveau de bovin par *Cowdria ruminantium*. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1993, 46 (1-2) : 203

Les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) jouent un rôle clé dans l'induction de l'immunité. Chez le bovin, les molécules de classe II du CMH, codées par les loci DR et DQ, sont constituées par deux chaînes protéiques, α et β , qui sont associées à une chaîne invariante (I) durant leur transport intracellulaire. Des cellules endothéliales bovines (BBEC) de microvaisseaux cérébraux peuvent être cultivées *in vitro* et n'expriment pas de manière constitutive des molécules de classe II du MHC. Néanmoins, après traitement avec de l'interféron γ bovin (INF γ), les BBEC synthétisent des protéines de classe II du CMH. Une infection *in vitro* des BBEC par *C. ruminantium* a été effectuée sur des cellules traitées ou non par l'INF γ . L'expression des molécules de classe II a été suivie, au niveau des ARN, par analyse de "northern blot". Quarante huit heures après l'infection, des transcrits correspondant à la chaîne I ont été détectés sur toutes les cellules infectées. Deux ARNmDQ α de 1,3 et 1,5 kb sont présents sur les cellules infectées et traitées à l'INF γ , alors qu'un simple transcrit DQ α de 1,5 kb a été observé sur les cellules seulement infectées. D'autre part, les cellules traitées mais non infectées ont montré un simple ARNmDQ α de 1,3 kb. La nature et la fonctionnalité de l'espèce moléculaire de 1,5 kb demeurent inconnues, mais elle pourrait représenter un ARNmDQ α polyadénylé en un deuxième site en aval du premier site de polyadénylation. En contraste de l'expression précoce des chaînes I et DQ α , les ARNmDR α n'ont été détectés que sept jours après l'infection. Il est important de noter qu'une lyse totale des BBEC infectées n'a été obtenue qu'au treizième jour de l'infection, alors que les cellules infectées et traitées par l'INF γ ont montré un effet cytopathogène plus précoce et plus marqué. Les résultats présentés ici montrent que les molécules de classe II du CMH peuvent être induites sur les BBEC après infection par *C. ruminantium*, ce qui nous mène à l'hypothèse que les cellules endothéliales de cerveau peuvent exercer une fonction immunitaire spécifique, comme la présentation d'antigènes. Des expériences supplémentaires doivent être accomplies de manière à évaluer si oui ou non ces cellules infectées peuvent spécifiquement stimuler des cellules T.

BOURDOULOUS (S.), BENSALD (A.), MARTINEZ (D.), DURIEU-TRAUTMANN (O.), STROSBERG (A.D.), COURAUD (P.O.). MHC class II molecules induction after infection of bovine brain endothelial cells by *Cowdria ruminantium*. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1993, 46 (1-2) : 203

Major histocompatibility complex (MCH) class II molecules play a key role in inductions of immunity. In cattle, MCH class II molecules encoded by th DR and DQ loci are constituted by one α and one β protein chain which are associated to an invariant (I) chain during their intracellular transport. Bovine brain endothelial cells (BBEC)

from microvessels can be cultured *in vitro* and do not express constitutively MCH class II molecules. However, after treatment with bovine γ interferon (γ INF), BBEC synthesize MHC class II proteins. *In vitro* infection with *C. ruminantium* of BBEC treated or not by γ INF was performed. Expression of class II molecules was monitored at the RNA level by northern blot analysis. Forty eight hours after infection, transcripts corresponding to the I chain were detected on all infected cells. Two DQ α mRNA of 1.3 and 1.5 kb were present on INF treated infected cells whereas a single 1.5 kb DQ α transcript was observed on infected cells. In the other hand, treated but non-infected cells displayed a single 1.3 kb DQ α mRNA. The nature and functionality of the 1.5 kb molecular specie remains unknown but it might represent a DQ α mRNA polyadenylated at a second site downstream the first site of polyadenylation. In contrast, to the early expression of I and DQ α chains, the DR α mRNA were detected 7 days after infection. It is important to note that total lysis of infected BBEC was obtained 13 days after infection while γ INF treated and infected cells displayed an earlier and more marked cytopathogenic effect. The results presented here show that MCH class II molecules can be induced in BBEC after *C. ruminantium* infection ; leading to the hypothesis that brain endothelial cells can exert specific immune functions such as antigen presentation. Further work must be accomplished to assess whether or not these infected cells can specifically stimulate T-cells.

BOURDOULOUS (S.), BENSALD (A.), MARTINEZ (D.), DURIEU-TRAUTMANN (O.), STROSBERG (A.D.), COURAUD (P.O.). Inducción de moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) después de la infección de células de endotelio cerebral bovino con *Cowdria ruminantium*. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1993, 46 (1-2) : 203

Las moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), juegan un papel clave en la inducción de la inmunidad. En el ganado, las moléculas clase II del MHC codificadas en el loci DR y DQ, se encuentran constituidas por una cadena de proteínas α y una de β , las cuales se encuentran asociadas en una sola (I) cadena durante el transporte intracelular. Las células de endotelio cerebral bovino (BBEC) provenientes de microcapilares, pueden cultivarse *in vitro* y sin que se observe la expresión de moléculas de clase II del MHC. Sin embargo, después de un tratamiento con interferón bovino γ (γ INF), las BBEC sintetizaron proteínas clase II del MHC. Se llevó a cabo una infección *in vitro* de las BBEC con *C. ruminantium*, con o sin tratamiento de γ YINF. A nivel del ARN, la expresión de proteínas de clase II del MHC, se siguió gracias al análisis del "northern blot". Cuarenta y ocho horas después de la infección, las transcripciones correspondientes a la cadena I se detectaron en todas las células infectadas. Se encontraron dos DQ α ARNm de 1,3 y 1,5 kb en las células infectadas tratadas con INF, mientras que una sola transcripción de DQ α , de 1,5, se observó en las células infectadas. Por otro lado, las células tratadas, pero no infectadas, mostraron una DQ α ARNm de 1,3 kb. Aún no se conocen ni la naturaleza y ni la funcionalidad de la especie molecular de 1,5 kb, pero podría representar una DQ α ARNm poli-adenilica en un segundo sitio, bajo el primer sitio de poliadenilización. En contraste con la expresión encontrada en las cadenas I y DQ α , la DR α ARNm se detectó 7 días post infección. Es importante notar que la lisis total de las BBEC infectadas, se obtuvo 13 días después de la infección con *C. ruminantium*, mientras que las células infectadas y tratadas con γ INF mostraron un patrón citopatológico más temprano y marcado. Los resultados muestran que las moléculas clase II del MHC pueden ser inducidas en BBEC después de una infección con *C. ruminantium*. Esto conduce a la hipótesis de que las células endoteliales podrían ejercer funciones inmunes específicas, como la presentación de antígenos. Se recomienda llevar a cabo otros estudios, con el fin de determinar si estas células infectadas pueden o no estimular en forma específica las células T.

1. CNRS, 22 rue Méchain, 75014 Paris, France.

2. CIRAD-EMVT, 10 rue Pierre-Curie, 94704 Maisons-Alfort Cedex, France.

3. CIRAD-EMVT, BP 1232, 97185 Pointe-à-Pitre Cedex, Guadeloupe.

* Seuls les résumés de cette communication sont publiés dans ce volume.